

Untersuchungen über die Entwicklung von *Sarcocystis*
singaporensis ZAMAN und COLLEY, 1976 in der Ratte
(*Rattus norvegicus* BERKENHOUT, 1769) und in dem
Netzpython (*Python reticulatus* SCHNEIDER, 1801)

Helga Brehm

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551912_0032

Aus dem Institut für Zoologie (Abteilung Parasitologie)
der Universität Hohenheim (Leiter: Prof. Dr. W. Frank)

vorgelegt über

Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch)
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Untersuchungen über die Entwicklung von *Sarcocystis*
singaporensis ZAMAN und COLLEY, 1976 in der Ratte
(*Rattus norvegicus* BERKENHOUT, 1769) und in dem
Netzpython (*Python reticulatus* SCHNEIDER, 1801)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Helga Brehm
aus
Erlangen

München 1979

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent:	Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch
Korreferent:	Prof. Dr. J. von Sandersleben

Tag der Promotion: 23. Februar 1979



I	Einleitung	1
II	Entwicklung von Sarkosporidien sowie Morphologie, Biologie und Pathogenität von Sarcocystis-Arten der Reptilien (anhand der Literatur)	1
III	Eigene Untersuchungen	7
A	Material und Methoden	7
B	Ergebnisse	11
	1. Entwicklung im Zwischenwirt (Rattus norvegicus)	11
	a) Schizogonie	11
	b) Endodyogenie	17
	2. Entwicklung im Endwirt (Python reticulatus) .	25
	a) Gamogonie	25
	b) Sporogonie	27
IV	Besprechung der Ergebnisse	30
V	Zusammenfassung	36
	Summary	37
VI	Literaturverzeichnis	38

Lebenslauf

I EINLEITUNG

Ausgangspunkt für diese Arbeit war die natürliche Sarcocystis-Infektion einer Schlange. Das juvenile Tier der Art *Python reticulatus* kam, frisch aus Ostasien importiert, zur Sektion. Bei ihm wurde ein Befall mit Sarcocystis-Sporozysten im Darm nachgewiesen. Diese Stadien waren identisch mit denen, die bereits zuvor verschiedentlich bei frisch aus Thailand importierten Schlangen der gleichen Art nachgewiesen worden waren (FRANK, pers. Mitteilung). Die Art wird in dieser Untersuchung als *Sarcocystis singaporensis* bezeichnet, ohne auf die Problematik bei der bisherigen Benennung verschiedener Sarcocystis-Arten (TADROS und LAARMANN, 1976; FRENKEL, 1977; LEVINE, 1977) einzugehen. Die in den vergangenen sechs Jahren intensivierte Erforschung der Entwicklungszyklen von Sarcocystis-Arten der Haustiere ließ es interessant erscheinen, einen vollständigen Entwicklungszyklus mit Ratten als Zwischenwirt und Schlangen (*Python reticulatus*) als Endwirt zu untersuchen. Die einzelnen Entwicklungsschritte dieser Infektion sowohl durch klinische Überwachung am lebenden Tier als auch durch Nachweis der Sarcocystis-Stadien im lichtmikroskopischen Präparat darzustellen, soll die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sein.

II ENTWICKLUNG VON "SARKOSPORIDIEN" SOWIE MORPHOLOGIE, BIOLOGIE UND PATHOGENITÄT VERSCHIEDENER SARCOCYSTIS-ARTEN DER REPTILIEN (ANHAND DER LITERATUR)

Der Entwicklungszyklus von Sarkosporidien bei Haustieren wurde 1972 von ROMMEL, HEYDORN und GRUBER aufgeklärt. Sie fanden, daß Sarkosporidien zweiwirtige Parasiten von Wirbeltieren sind, die im Zwischenwirt Muskelzysten und im Endwirt Oozysten bzw. Sporozysten bilden. Bei den bisher untersuchten Arten, die vorwiegend aus Haustieren stammten, ist der Entwicklungskreislauf weitgehend ähnlich.

Der Endwirt infiziert sich durch die Aufnahme von zystenhaltigem Fleisch. Die im Verdauungstrakt freiwerdenden Zystozoiten dringen in Zellen des Epithels von Duodenum und Jejunum ein; nur bei Be-

handlung mit Cortisonpräparaten war bei Katzen, an die Muskelnzysten vom Schaf (*S. tenella*) verfüttert worden waren, auch eine Entwicklung im Colon zu beobachten (MEHLHORN und SCHOLTYSECK, 1974). Die Zystozoiten runden sich nach dem Eindringen ab und werden ohne Einschaltung einer Schizogonie zu Mikro- und Makrogametozyten. Diese Stadien werden heute von vielen Autoren als Mikro- und Makrogamonten bezeichnet, eine Benennung, die der besseren Verständlichkeit wegen in dieser Arbeit gleichfalls verwendet werden soll. Innerhalb von 18 bis 21 Stunden ist die Gamogonie abgeschlossen (MEHLHORN, BECKER und HEYDORN, 1978). Diese Entwicklung läuft zwischen dem Darmepithel und der Lamina propria, selten in der Lamina propria der Zottenspitzen ab. Nach drei Tagen wird der Makrogamont zur Oozyste, die innerhalb der Zotten ab dem 5. Tag sporuliert (HEYDORN und ROMMEL, 1972). So schieden Katzen nach der Aufnahme von zystenhaltigen Hammelschlünden 12 Tage später (ROMMEL, HEYDORN und GRUBER, 1972), nach Verabreichung von zystenhaltiger Rindermuskulatur 7 bis 9 Tage später Sporozysten der entsprechenden *Sarcocystis*-Arten aus (HEYDORN und ROMMEL, 1972a). Die Ausscheidungsdauer beträgt mehrere Wochen.

Werden infektionstüchtige Sporozysten vom geeigneten Zwischenwirt aufgenommen, so kommt es zur Schizogonie in den Endothelzellen der Blutgefäße. Durch Verfolgung der Körpertemperatur und entsprechende Tötungen stellten HEYDORN und IPCZYNSKI (1978) zwei Schizontengenerationen für *Sarcocystis suis hominis* fest.

Die Pathogenität von *Sarcocystis*-Infektionen für den Zwischenwirt war besonders während der Schizogoniephase auffallend. Bei hoher Dosierung von 200.000 bis 2 Millionen Sporozysten bei *Sarcocystis bovicanis*, *S. ovis* und *S. suis hominis* zeigten die Tiere ein schlechtes Allgemeinbefinden, ein Ansteigen der Körpertemperatur, ein Abfallen des Hämatokritwertes und Anämie. Bei der postmortalen Untersuchung fielen die petechialen Blutungen auf den serösen Häuten und den großen Parenchymenten, Lymphadenitis und Milzhypertrophie auf (FAYER und JOHNSON, 1973; GESTRICH, SCHMITT und HEYDORN, 1974; MUNDAY, 1975; HEYDORN und GESTRICH, 1976; JUNGSMANN et al., 1977).

Die aus der zweiten Schizontengeneration hervorgehenden Merozoiten dringen in Skelettmuskelzellen ein. Während HEYDORN (1977) beim Schwein schon am 27. Tag p.i. unreife Muskelzysten nachweisen konnte, ließen sie sich bei Wiederkäuern (Schaf und Rind) erst ab dem 34. bis 40. Tag p.i. auffinden (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, 1975; 1975a; 1975b). Die jungen Muskelzysten enthalten teilungsaktive Metrozyten und die Zystenwand erscheint als dünne Hülle. Mit fortschreitender Reife nimmt die Anzahl der durch Endodyogenie gebildeten Zystozoiten im Zysteninneren zu. Auch die Zystenwand unterliegt während des Zystenwachstums einer Differenzierung; im lichtmikroskopischen Präparat stellt sie sich zunächst dünn und später dickwandig dar. Die Ausbildung der Zystenwand ist aber auch abhängig von der Art des Endwirtes. So fanden GESTRICH, MEHLHORN und HEYDORN (1975) dickwandige Muskelzysten im Kalb nach der Infektion mit Sporozysten von *S. fusiformis* (Endwirt Katze), HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975) dagegen dünnwandige Muskelzysten im Kalb nach der Infektion mit Sporozysten von *S. fusiformis* (Endwirt Hund). Die Aufnahme reifer Muskelzysten durch einen geeigneten Endwirt führt letztlich zur Oozysten- bzw. Sporozystenbildung und Ausscheidung mit den Faezes.

Über das Vorkommen von Sarkosporidien-Muskelzysten bei Reptilien liegt eine erste Beschreibung durch BERTRAM (1892) vor. Er fand makroskopisch sichtbare, gelbliche Zysten von 2 mm Länge und 0,4 mm Breite in Rücken-, Brust- und Bauchmuskulatur eines Mauergeckos (*Tarentola mauritanica* syn., *Platydictylus facetanus*) von Menorca. Die Zystenhülle war von einer äußeren 7 µm dicken, gestrichelt aussehenden Schicht gebildet, deren Struktur BERTRAM (1892) durch Risse verursacht glaubte. An der inneren, dünnen Schicht der Zystenwand beobachtete er Fortsätze, die das Zysteninnere in ein Kammernetz unterteilten, in dem 3 - 4 x 1 µm große, sichelförmige Körperchen lagen.

CHATTON und AVEL (1923) fanden dagegen an der äußeren Schicht der Zystenhülle eines Geckos aus Tunesien 20 µm lange und 2 µm dicke Fortsätze. Diese hohlen Röhrchen, die sie "Cytophanères"

nannten, waren am proximalen Ende gestielt. Die in der gekammerten Zyste liegenden Keime schienen ihnen toxoplasmaähnlich. TRINCI (1910) beobachtete Muskelzysten beim Walzenskink *Chalcides* (syn. *Gongylus*) *ocellatus* in Sizilien. Sie waren 200 bis 800 μm lang und 50 bis 60 μm breit. Im Inneren sah er 3 - 4 x 1 μm große "Sporen". Die Zystenwand war dick und besaß eine charakteristische Streifung.

TIEGS (1931) entdeckte erstmals bei einer Schlange der Art *Morelia argus* (syn. *Python spilotes*) dünnwandige, gekammerte Zysten von 1,1 mm Länge. Als Zysteninhalt sah er nicht nur 4 bis 7 μm große "Sporen", sondern auch runde oder polygonale Zellen, die heute als Metrozyten bezeichnet werden.

BABUDIERI (1932) beschreibt eine Sarkosporidienart aus einer Mauereidechse (*Lacerta muralis*). Er sah dünnwandige Zysten von 1 x 1,8 bis 2 mm Größe; die darin gelegenen "Sporen" maßen 1,5 bis 2 x 6,5 bis 7,3 μm .

SÉNAUD und De PUYTORAC (1965) fanden in Frankreich Sarkosporidien bei einer Eidechse der gleichen Art, die im Gegensatz zu der von BABUDIERI (1932) beschriebenen Art eine dicke Wand mit 3 μm langen Fortsätzen besaß; sie erinnerte die Autoren an die "Cytophanères" von CHATTON und AVEL (1923).

FRANK (1966) entdeckte bei der Sektion eines Chamäleon (*Chamaeleo fischeri*) einen massiven Befall mit 1,5 cm langen und 0,5 bis 1 mm breiten Zysten in Kau-, Rumpf- und Gliedmaßenmuskulatur, während Becken- und Schwanzmuskulatur weniger betroffen waren. Nur im Bereich der Beine konnte er im histologischen Präparat eine Zystenhülle erkennen, während im Kopfbereich die Trophozoiten frei in der Muskulatur lagen. Auch fand FRANK (1966) Trophozoiten im Blut, die mit 10 bis 14 x 3 bis 3,8 μm dicker und kürzer als die in der Muskulatur vorkommenden 10 bis 13 x 2 μm großen Trophozoiten waren.

1971 beschrieben LAINSON und SHAW in 18 von 206 untersuchten Skorpionschildkröten (*Kinosternon scorpioides*) Muskelzysten, die sie gleichfalls einer *Sarcocystis*-Art zuordnen konnten. Die 8 mm x 170 bis 230 μm großen Zysten waren in der gesamten Skelettmuskulatur zu finden. Da die Zysten sehr lang und schlank waren

(18,4 x 1,7 µm), schlugen LAINSON und SHAW (1971) den Namen *Sarcocystis gracilis* vor, änderten ihn aber 1972 in *Sarcocystis kinosterni*, da der andere Name schon für eine *Sarcocystis*-art beim Reh präokkupiert war (*S. gracilis* v. RATZ, 1909).

Über die Pathogenität der Sarkosporidien bei Reptilien ist nicht viel bekannt. Zwar berichten CHATTON und AVEL (1923), daß die den Zysten anliegende Muskulatur eine hyaline Degeneration und ungeordnete Fibrillen aufweist, doch führen sie es nicht auf die Wirkung der Sarkosporidien zurück.

FRANK (1966) schreibt, daß das Chamäleon vor seinem Tod Schluck- und Kaubeschwerden zeigte. Im histologischen Präparat lagen die Trophozoiten frei zwischen den zerstörten Muskelfasern, die schon makroskopisch als helle, "breiige" Partien auffielen.

Auch LAINSON und SHAW (1971) bemerkten eine Abwehrreaktion des Körpers in Form einer Rundzelleninfiltration, aber nur dann, wenn die Zysten zerrissen waren und die Zoiten diffus in der Muskulatur verstreut waren.

Erst nach Aufklärung des Entwicklungszyklus der Sarkosporidien bei Haustieren beobachtete RZEPCZYK (1974) in Australien bei fünf von sieben gefangenen Schlangen der Art *Morelia spilotes variegata* im Kot *Sarcocystis*-Sporozysten, die 9,6 x 6,6 µm groß waren.

1975 stellten ZAMAN und COLLEY in Singapore bei fünf *Python reticulatus* ebenfalls einen Befall mit *Sarcocystis*-Sporozysten fest, die aber 8 bis 11 x 7 bis 10 µm maßen. Im histologischen Präparat des Schlangendünndarmes fanden sie 6 bis 8 µm große Mikrogamonten mit bis zu 18 Kernen und 5 bis 10 µm große Makrogamonten, die oberhalb des Epithelzellkernes in einer parasitophoren Vakuole lagen. Sie nannten diese Parasiten zunächst *Sarcocystis orientalis*, änderten die Bezeichnung aber 1976 in *Sarcocystis singaporensis*, da die Artbezeichnung bereits 1958 von MACHULSKII und MISKARYAN für eine *Sarcocystis*-Art aus einem Steinbock (*Capra sibirica*) verwendet worden war. Die Sporozysten aus Schlangen (*Morelia spilotes variegata* und *Python reticulatus*)

wurden von RZEPCZYK an drei und von ZAMAN und COLLEY an 30 Laborratten verfüttert. Alle drei Ratten von RZEPCZYK (1974) und 28 der Ratten von ZAMAN und COLLEY (1975) starben zwischen dem 5. und 12. Tag p.i. Leider fehlen genaue Zahlenangaben über die Dosierung. Selbst 25 Ratten, die ZAMAN (1976) mit 500 Oozysten infiziert hatte, starben drei Wochen p.i. - Eine Differenzierung zwischen Oozysten und Sporozysten wurde von dem Autor in seiner Publikation leider nicht vorgenommen.

RZEPCZYK (1974) fand in den Kapillaren der Skelettmuskulatur der drei toten Ratten zystenähnliche 13 bis 24 x 7 bis 16 µm große Gebilde mit 5 x 2 µm großen Zoiten.

ZAMAN und COLLEY (1975) sahen vom 4. bis 9. Tag p.i. im Blut der Ratten 6,8 bis 9 x 2 bis 3,3 µm messende Zoiten, die auch in allen Organausstrichen außer im Gehirn beobachtet wurden. Schizonten von 5 bis 6 µm Größe, die sie nur in der Lunge gefunden hatten, wurden von ZAMAN (1975) als *Pneumocystis* sp. erkannt.

Bei zwei mit geringerer Dosis infizierten Ratten beobachteten ZAMAN und COLLEY (1975) 4 x 2 mm große Zysten in der Muskulatur. Am Zystenwall entdeckten sie eine 4,5 µm lange gestreifte Schicht, die im elektronenmikroskopischen Präparat aus 4 x 1 µm langen Fortsätzen bestand. An deren Basis erkannten sie eine Reihe von 150 x 8 nm großen Mikrotubuli, die ZAMAN und COLLEY (1975) für ein Reservoir von Fortsätzen hielten. Versuche, andere Tiere mit Sporozysten aus der Schlange zu infizieren, schlugen fehl (ZAMAN, 1976).

Da RZEPCZYK (1974) in dem gleichen Gebiet, in dem sie die Schlangen gefangen hatte, einen 95 %igen Befall bei *Rattus fuscipes* mit *Sarcocystis*-Muskelzysten feststellte, verfütterte sie Muskulatur solcher Tiere an Schlangen (*Morelia spilotes variegata*). Zehn Wochen später konnte sie im Schlangendarm und -kot Sporozysten nachweisen, die denen der natürlich infizierten Schlangen entsprachen.

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Muskulatur infizierter Ratten von RZEPCZYK und SCHOLTYSECK (1976) erbrachten den Nachweis zweier unterschiedlicher Muskelzysten. Eine 590 x 1500 µm große Zyste mit 8,5 bis 11 µm dicker Zystenwand und eine

kleinere Zyste mit dünner Wand. Es ist bisher nicht bekannt, welche der beiden Zystenarten die Ausscheidung von Sporozysten in diesen Schlangen hervorruft.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A Material und Methodik

Als Ausgangsmaterial dienten Sarcocystis-Sporozysten eines Python reticulatus. Die 120 cm große Schlange war frisch aus Ostasien importiert und wies bei der Sektion im April 1978 einen starken Befall mit Sarcocystis-Sporozysten auf. Der Darmkanal des Tieres wurde in PBS-Lösung ausgewaschen und die so gewonnene Sporozysten-Suspension durch mehrmaliges Waschen in PBS-Lösung gereinigt. Um die Sporozystenanzahl pro Milliliter Suspension zu ermitteln, wurden 20 mit der Mikropipette (Fassungsvermögen 5 µl) erfaßte Proben im Deckglaspräparat unter dem Mikroskop mit 200-facher Vergrößerung ausgezählt. Die Aufbewahrung der Suspension erfolgte in PBS-Lösung bei 4° C im Kühlschrank. Die auf diese Weise gewonnene Gesamtmenge an Sporozysten betrug etwa 6 Millionen.

Zur histologischen Beurteilung wurden kleine Gewebestücke des Python reticulatus aus Dünndarm, Mitteldarm und Enddarm in 4 %igem Formalin 24 Stunden fixiert und, wie auch alle weiteren histologisch zu untersuchenden Organe, über eine Alkoholreihe (50, 70, 80, 96 und 100 %) hochgeführt und in Methacrylat eingebettet. So konnten 3 µm dicke Schnitte mit einem Mikrotom (Typ 1140 / Autocut, Jung/Heidelberg) angefertigt, auf Objektträger aufgezogen, mit Delafieldschem Hämatoxylin (ROMEIS 1968) und Azophloxin angefärbt und anschließend mit Entellan (Merck 7961) eingedeckt werden.

Für die Untersuchungen im Zwischenwirt wurden insgesamt 85 männliche Wistarratten in Makrolonkäfigen mit Sägemehl als Einstreu konventionell gehalten und mit ALTROMIN-Standard-Diät (Firma ALTROMIN GmbH, Lage/Lippe) gefüttert. 10 der Ratten wurden mit

50.000 Sporozysten, 15 mit 10.000 Sporozysten, 4 mit 1.000 Sporozysten, 20 mit 300 Sporozysten und 33 Ratten mit 150 Sporozysten infiziert. Die orale Applikation der Sporozystensuspension, in max. 1 ml Flüssigkeit, erfolgte mit einer leicht gebogenen Knopfkanüle.

Von den 15 mit 10.000 Sporozysten infizierten Wistarratten wurde am 5., 6., 7., 8., 10., 12., 13., 14., 15. und 16. Infektionstag je ein Tier mit Chloroform getötet. Danach erfolgte die Anfertigung von Tupfpräparaten aus Gehirn, Lunge, Leber, Niere, Milz, Darmlymphknoten und einem Körperlymphknoten und nach der Färbung mit Giemsa die Untersuchung auf Schizonten bzw. Merozoiten. Zur histologischen Beurteilung wurde je ein Stück der vorher genannten Organe und dazu je eines von Dünndarm und Zwerchfell nach bereits beschriebener Methode fixiert, eingebettet, geschnitten und gefärbt.

Zur klinischen Überwachung wurde bei 20 der mit 150 Sporozysten infizierten Wistarratten sowie drei Kontrolltieren in den ersten 30 Tagen nach der Infektion täglich vormittags die rektale Temperatur mit einem Sekundenthermometer (Braun, Melsungen) gemessen und aufgezeichnet.

Um die Muskelzystenentwicklung zu verfolgen, wurde von 13 weiteren mit je 150 Sporozysten infizierten Ratten jeweils eine am 25., 30., 40., 50., 60., 70., 100., 120. und 140. Tag p.i. mit Chloroform getötet und Proben aus Zunge, Ösophagus, Zwerchfell und Oberschenkel entnommen und wie die inneren Organe bei der Schizogonie zu histologischen Präparaten verarbeitet.

Zur Nativbetrachtung und Zählung der Muskelzysten wurde von den gleichen Tieren Material verwendet, das nach der mechanischen Zerkleinerungs- und Ausschüttelmethode mit physiologischer Kochsalzlösung, wie von ERBER (1977) angegeben, aufgearbeitet wurde. Dabei werden, nachdem ein Stück für histologische Zwecke entnommen ist, ca. 1,2 g Zunge, ca. 0,8 g Ösophagus, ca. 1,3 g Zwerchfell und 5 g Oberschenkelmuskulatur in 3 mm große Würfel zerschnitten und die Muskelstückchen in einem Erlenmeyer-Kolben mit physiologischer Kochsalzlösung (pro Gramm Fleisch 5 ml) und Glasperlen mit 4 mm Durchmesser ausgeschüttelt, anschließend durch ein Sieb mit 600 bis 700 µm Maschenweite abgeseiht und bei 800xg

fünf Minuten lang zentrifugiert. Die im Bodensatz befindlichen Muskelzysten können im Deckglaspräparat bei 50-facher Vergrößerung betrachtet werden.

Der im Sieb verbliebene Rest der Muskelstückchen ließ sich noch zur Isolierung der Zystozoiten verwenden. Diese Stückchen wurden in einer Lösung aus 20 mg Trypsin (2000 E/g Firma Merck), 500 mg NaHCO_3 und 500 mg Na-taurocholat in 50 ml Aqua dest. bei pH 7,3 und bei 20 bis 23° C unter Rühren verdaut. Nach Abseihen der Lösung und dem Zentrifugieren mit 800xg konnten die im Bodensatz befindlichen Zystozoiten im Deckglaspräparat mit 800-facher Vergrößerung untersucht werden.

Um die Zystozoiten gefärbt betrachten zu können, wurde 1 g Muskulatur mit ebensoviel PBS-Lösung versetzt, mit Hilfe eines ULTRA-TURRAX (Firma Janke & Kunkel KG, Staufen i.Br.) zerkleinert und aus der sich ergebenden Suspension ein Ausstrichpräparat angefertigt und nach Giemsa gefärbt.

Die drei Kontrolltiere wurden am 80. Tag p.i. getötet und mit Hilfe der Ausschüttelmethode nach Muskelzysten und mit der Trypsinierungs-Technik nach Zystozoiten untersucht.

Als Endwirte standen vier 150 bis 160 cm große Schlangen der Art *Python reticulatus* zur Verfügung, die im Sommer 1977 aus Ostasien importiert worden waren. Sie wurden einzeln in Terrarien auf Zeitungspapier bei 28° Lufttemperatur in üblicher Weise gehalten. Ab 31.10.77 erfolgte für drei Monate die Kontrolle jedes Kotabsatzes mit der Zinksulfatmethode nach *Sarcocystis*-Sporozysten. Ein erbsengroßes Stück Kot wurde mit wenig gesättigter 33 %iger Zinksulfatlösung (spez. Gew. 1,2) in einer Reibschale mit Pistill gründlich verrührt, anschließend mit der 10- bis 20-fachen Menge Zinksulfatlösung aufgefüllt und wieder gründlich vermischt. Das Gemisch wurde durch ein Sieb mit der Maschenweite von 600 bis 700 μm so in ein Reagenzglas gefüllt, daß etwas Flüssigkeit über den Rand des Reagenzglases hochstand. Nach 25 Minuten waren, wie Vergleichsuntersuchungen gezeigt hatten, die spezifisch leichteren Sporozysten an die Oberfläche gestiegen, so daß sie dort nachgewiesen werden konnten. Dabei wurde der oberste Tropfen mit einem Deckglas (18 x 18 mm) durch kurzen Kontakt ab-

genommen, auf einen Objektträger gebracht und anschließend unter dem Mikroskop mit 200-facher Vergrößerung durchmustert. Alle vier Tiere waren während dieser drei Monate negativ. Der Kot wurde kurz vor der Infektion (Juli 1978) nochmals auf einen eventuellen Befall kontrolliert ohne dabei Sporozysten gefunden zu haben.

Vor der Infektion wurde den Schlangen 14 Tage kein Futter angeboten. Die Infektion der Schlangen erfolgte mit zystenhaltiger Rattenmuskulatur. Dazu wurde je eine der zuvor mit 150 Sporozysten infizierten männlichen Wistarratten zwischen dem 60. und 100. Infektionstag mit Chloroform getötet, ein Teil ihres Zungenfleisches mit der mechanischen Zerkleinerungs- und Ausschüttelmethode auf Zysten hin untersucht und anschließend das gesamte Muskelfleisch in die Leibeshöhle von zwei bzw. drei durch Genickschlag getöteter NMRI-Mäuse verpackt. Dieses Vorgehen erwies sich als notwendig, da die Schlangen für die Aufnahme von erwachsenen Ratten noch zu klein waren. Nach der Infektion erfolgten alle weiteren Fütterungen nur mit NMRI-Mäusen.

Vom ersten *Python reticulatus*, der mit einer Ratte vom 60. Tag p.i. infiziert worden war, wurden mit der Zinksulfatmethode regelmäßig Kotproben zur Feststellung der Patenz und Präpatenz untersucht. Von den drei anderen Schlangen wurden zwei mit je einer Ratte vom 80. Tag nach der Verabreichung von Sporozysten und eine mit einer vom 100. Tag p.i. infiziert. 45 Stunden nach der Infektion bzw. am 4. und 8. Tag nach der Infektion erfolgte eine Dünndarmresektion. Nach der notwendigen Betäubung mit 100 mg/Kg KG Vetalar (Parke-Davis) und Laparatomie wurde ein Teil des Fettkörpers entfernt und ein 1,5 cm langes Darmstück herausgeschnitten. Die verbliebenen Darmenden wurden durch End-zu-End-Anastomosen mit der doppelten Lembertschen Naht aneinandergefügt, der Darm in die Leibeshöhle reponiert und die Bauchwand mit der Achternahrt verschlossen. Nach der Fixierung des entnommenen Darmstückes in 4 %igem Formalin konnte es nach der beschriebenen Methode histologisch aufgearbeitet werden.

B Ergebnisse

1. Entwicklung im Zwischenwirt (Rattus norvegicus), Stamm Wistar

Als Infektionsmaterial dienten Sporozysten aus einem Python reticulatus. Die durch Auswaschung des gesamten Darmtraktes gewonnene Suspension enthielt Sporozysten, die vereinzelt noch paarweise von einer dünnen, farblosen Oozystenhülle umgeben waren (Abb. 12a). Die Sporozysten besaßen keinen Stiedakörper und enthielten je vier Sporozoite sowie einen runden Restkörper mit ca. 2 μ m Durchmesser. 20 ausgezählte Sporozysten maßen 8,4 bis 10,2 ($9,39 \pm 0,53$) x 7,2 bis 8 ($7,28 \pm 0,25$) μ m. Die Sporozoiten waren im Schnitt 6 bis 7,8 x 2 μ m groß, mit leicht gebogener Gestalt.

a) Schizogonie

Zur Beobachtung der Schizogonie wurden zehn Ratten mit je 10.000 Sporozysten infiziert, am 5., 6., 7., 8., 10., 12., 13., 14., 15. und 16. Tag je ein Tier getötet und von diesem Organtupfpräparate und histologische Präparate angefertigt.

Bereits am 5. Tag p.i. konnten in Tupfpräparaten von Lunge, Leber, Milz und Niere Schizonten festgestellt werden. Die jungen Schizonten wiesen 2 bis 38 dunkelgefärbte Kerne auf. Sie lagen locker im Zytoplasma der stark vergrößerten Wirtszelle. Mit weiterem Wachstum schienen sie den Zellkern der Wirtszelle an den Rand zu verdrängen.

Am 6. Tag p.i. konnte man in den Tupfpräparaten von Milz und Darmlymphknoten die ersten ausdifferenzierten Merozoiten sehen. Am 7., 8. und 10. Tag waren die Merozoiten auch in der Lunge (Abb. 1 a), Leber und Niere anzutreffen. Die Größe von 20 gemessenen Merozoiten betrug 5,88 bis 6,86 ($6,66 \pm 0,33$) x 1,96 bis 2,64 ($2,22 \pm 0,48$) μ m. Sie waren von plumper, leicht gebogener Gestalt, wobei das kernnahe Ende spitz zulief. Im Inneren waren der ca. 2,0 μ m große Kern und die deutlich gefärbte Polkappe sichtbar.

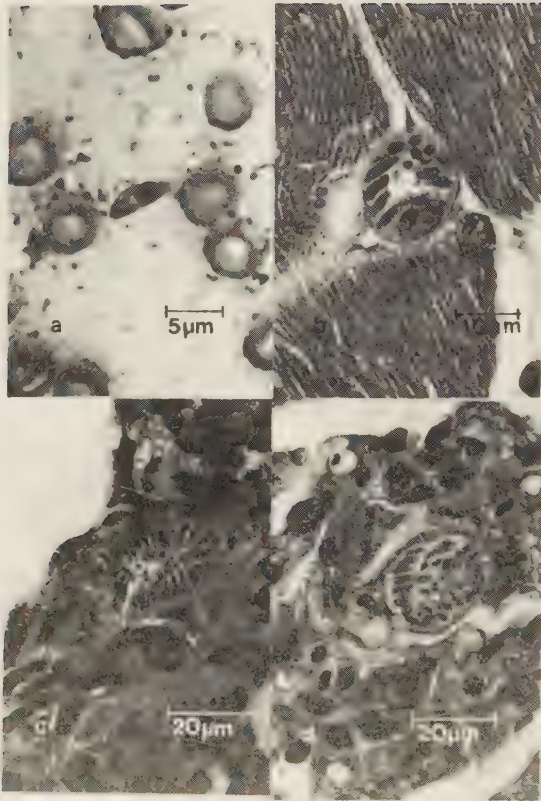


Abb. 1 Entwicklungsstadien in der Ratte nach oraler Infektion mit Sporozysten von *Sarcocystis singaporensis*

- a) Merozoit in der Lunge (Tupfpräparat 8. Tag p.i.)
- b) reifer Schizont im Zwerchfell (histologisches Präparat 10. Tag p.i.)
- c) reifer Schizont in der Lunge (histologisches Präparat 10. Tag p.i.)
- d) reifer Schizont in der Niere (histologisches Präparat 10. Tag p.i.)

Auch in histologischen Präparaten der gleichen Proben wurden reife Schizonten gefunden. Sie lagen in stark vergrößerten Wirtszellen, wobei bis zu 30 Kerne, von einem hellrosa Saum umgeben, zu erkennen waren, der sich von der Grundsubstanz der Zelle deutlich abhob. Die längliche Gestalt der späteren Merozoiten war bereits angedeutet. Die Tochterindividuen verteilten sich entweder unregelmäßig im Zytoplasma der Wirtszelle oder bildeten die Form einer Rosette. Die Größe der Schizonten stellte sich je nach Abschnitt und Anzahl im Schnitt getroffener Kerne unterschiedlich dar. Sie reichte von $9,6 \times 7,2$ bis $36,0 \times 19,2 \mu\text{m}$. Reife Schizonten traten gehäuft in Lunge und Niere auf, wobei sie in der Lunge nicht nur in den Endothelzellen der Blutgefäße, sondern auch in den Intervalveolarsepten (Abb. 1 c) zu finden waren. In der Niere lagen sie in den Glomeruli (Abb. 1 d), seltener im Bindegewebe zwischen den Tubuli.

Selbst im Muskel, wobei nur das Zwerchfell untersucht wurde, zeigte sich eine Schizontenentwicklung im bindegewebigen Teil (Abb. 1 b). Niemals konnte hier jedoch ein Schizont in der Muskelzelle selbst beobachtet werden. Im Darm traten die Schizonten in den Endothelzellen der gefäßreichen Lamina propria, im bindegewebigen Stratum intermuskuläre der Tunica muscularis und in den Peyerschen Platten auf. In Leber, Milz und Lymphknoten fanden sie sich nahe der Blutgefäße.

Am 12. und 13. Tag p.i. kamen Merozoiten in den Wirtszellen von Leber (Abb. 2 a), Lunge und Niere vor. Die Form der intrazellulären Merozoiten glich zunächst noch deutlich den freien Merozoiten, später schienen sie zu quellen und waren im Tupfpräparat als ovale bis runde Gebilde in den Zellen zu erkennen. Gleichzeitig traten in denselben Organen unreife Schizonten, vermutlich der zweiten Generation, auf (Abb. 2 b). Der junge Schizont stellte sich im histologischen Präparat als dunkelrosafarbiges, rundes Gebilde mit bis zu 30 dunkelblauen Kernen dar.

Am 14. Tag p.i. waren in allen untersuchten Organen reife Schizonten zu sehen. Sie befanden sich wie schon die der ersten Generation in den Endothelzellen der Organe, z.B. der Lamina propria des Darmes (Abb. 2 c), wobei sich der Schizont in der lumenseitigen

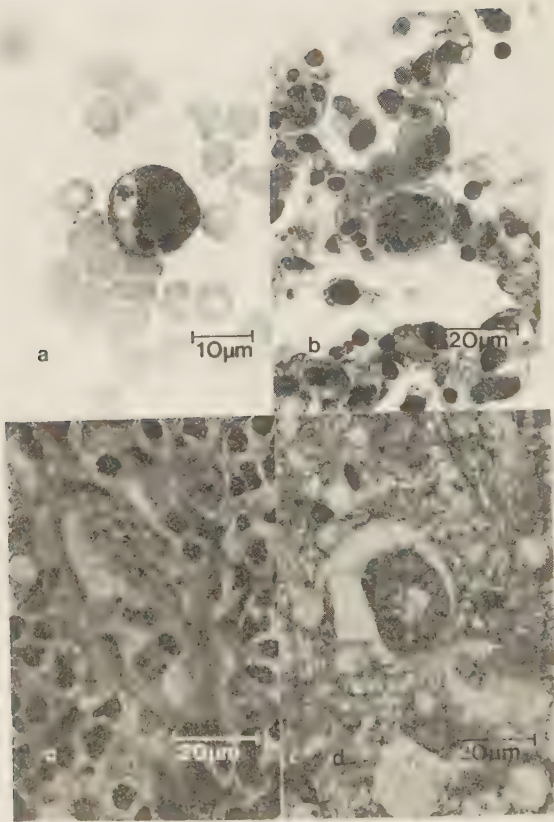


Abb. 2 Entwicklungsstadien in der Ratte nach oraler Infektion mit Sporozysten von *Sarcocystis singaporensis*

- a) Merozoit in einer Zelle der Leber (Tupfpräparat 12. Tag p.i.)
- b) unreifer Schizont in der Lunge (histologisches Präparat 13. Tag p.i.)
- c) reifer Schizont in einer Endothelzelle der Lamina propria des Darmes (histologisches Präparat 14. Tag p.i.)
- d) reifer Schizont im Gehirn (histologisches Präparat 14. Tag p.i.)

gen Ausbuchtung der Wirtszelle eingenistet hatte. Erstmals konnten am 14. Tag p.i. Schizonten auch im Gehirn entdeckt werden (Abb. 2 d). Sie lagen in den Endothelzellen der grauen Substanz oder deren Umgebung. Gleichzeitig waren die ersten freien Merozoiten in Lunge, Milz und Darmlymphknoten zu beobachten. Am 15. und 16. Tag p.i. waren freie Merozoiten der zweiten Generation in allen Tupfpräparaten der untersuchten Organe zu sehen. Diese freien Merozoiten unterschieden sich in Größe und Gestalt lichtmikroskopisch nicht von denen der ersten Schizogonie.

Zur Verfolgung des klinischen Verlaufes der Schizogonie wurde bei 20 Ratten, die mit 150 Sporozysten infiziert waren, 30 Tage lang die rektale Temperatur gemessen und aufgezeichnet. Dabei zeigten sich zwar relativ geringe, aber deutliche Temperaturanstiege von 1 bis max. $1,5^{\circ}$ C, die bei drei Kontrolltieren ausblieben. Der Zeitpunkt der Temperaturanstiege unterlag großen zeitlichen Schwankungen. Während sieben der Tiere bereits am 3. Tag p.i. eine Temperaturerhöhung zeigten, lag der erste Anstieg bei den übrigen Tieren zwischen dem 6. bis 8. Tag p.i. Auch der zweite Temperaturanstieg unterlag einer breiten Streuung, zwei Tiere hatten bereits am 14. Tag p.i., zwei erst am 19. Tag p.i. erhöhte Temperatur. Die restlichen 16 Tiere verteilten sich auf den 15. und 16. Tag p.i. Bei 12 von 20 Tieren war eine zusätzliche Temperaturerhöhung um den 24. und 25. Tag p.i. zu bemerken.

Die Durchschnittstemperatur von sechs ausgewählten Ratten, die gleichzeitig für weitere Untersuchungen verwendet wurden, ergab einen Kurvenverlauf, der die Beobachtungen an den Schnitt- und Tupfpräparaten bestätigte: ein deutlicher Temperaturanstieg am 6. Tag p.i. weist auf die erste Schizogonie, ein ebensolcher am 16. Tag p.i. auf die zweite Schizogonie hin (Abb. 3).

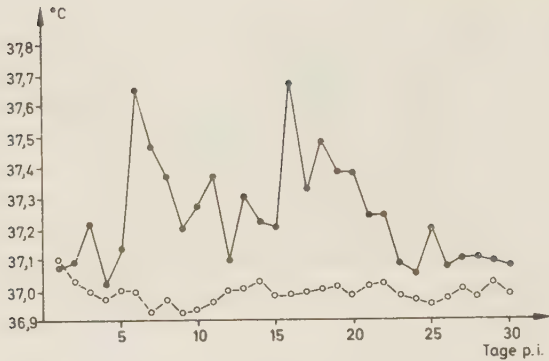


Abb.3

Durchschnittstemperatur von 6 mit je 150 Sporozysten infizierten männlichen Wistar-Ratten und von 3 Kontrolltieren.

●—● infizierte Ratten ○—○ Kontrolltiere

Bei den 33 mit 150 Sporozysten infizierten Ratten zeigten sich keinerlei Krankheitserscheinungen; sämtliche Tiere lebten noch am 25. Tag p.i. Die Dosis 300 Sporozysten pro Ratte waren für drei von 20 infizierten Tieren vom 10. bis 16. Tag p.i. tödlich. Von den mit 1.000 Sporozysten infizierten vier Tieren zeigten zwei Tiere am 19. und 20. Tag p.i. deutliche klinische Symptome: gekrümmter Rücken, frequente Atmung, Diarrhoe, blutiges Augen- und Nasensekret. Nach zwei Tagen hatten sich die Tiere aber wieder erholt. Die mit 10.000 Sporozysten infizierten Tiere starben vom 15. bis 20. Tag p.i.; die mit 50.000 Sporozysten infizierten Ratten vom 9. bis 13. Tag p.i. Diese hochinfizierten Tiere saßen ein bis zwei Tage vor ihrem Tod apathisch mit gekrümmten Rücken in den Käfigen. Die Atmung war frequent und flach. Die Körpertemperatur stieg bis auf 39°C , um kurz vor dem Tode auf 35°C abzusinken. Als Zeichen der starken Anämie waren die Akren und alle sichtbaren Schleimhäute weiß verfärbt. Petechiale Blutungen waren besonders an den Ohrrändern und Schleimhäuten deutlich zu sehen. An Nasen- und Augenrändern befanden sich Reste von eingetrocknetem, blutigem Sekret.

Die Sektion ergab eine Ansammlung seröser Flüssigkeit in Bauch- und Brusthöhle. Auffallend war bei allen Tieren die hyperplastische

sche Milzschwellung. Der Darm hatte ein glasiges, orangefarbenes Aussehen, die Peyerschen Platten waren verdickt und die Gekröselymphknoten zeigten eine markige Schwellung. Leber und Niere waren bei einem Teil der Tiere gelblich verfärbt. Bei den mit 50.000 Sporozysten infizierten Ratten sah man zusätzlich petechiale Blutungen in Lunge, Leber, Niere Pankreas und auf den Serösen Häuten. Bestimmte Stadien waren bei diesen sehr hoch infizierten Tieren besonders eindrucksvoll nachzuweisen.

b) Endodyogenie

Um die Bildung und Reifung der Muskelzysten beobachten zu können und um etwaige Degenerationerscheinungen bei alten Zysten zu erkennen, wurde je eine Ratte am 25., 30., 40., 50., 60., 70., 100., 120. und 140. Tag getötet.

Das Auftreten undifferenzierter Zysten war ab dem 25. Tag p.i. möglich. Mit Hilfe der Ausschüttelmethode konnte eine quantitative Erfassung der Muskelzysten durchgeführt werden. Es zeigte sich, daß die meisten Muskelzysten in der Zunge (z.B. am 25. Tag p.i. 22 Zysten pro Gramm Zunge) und in abnehmender Häufigkeit in Ösophagus, Zwerchfell und Oberschenkel (z.B. am 25. Tag p.i. 2 Zysten pro Gramm Muskulatur) vorkamen. Diese Verteilung war bei allen untersuchten Tieren während der 140 Tage zu beobachten. In histologischen Präparaten der Längs-, Vertical- und Transversalmuskulatur der Zunge, der Tunica muscularis des Ösophagus, den Zwerchfellpfeilern und der Oberschenkelmuskulatur war zu erkennen, daß die Zysten ausnahmslos intrazellulär in Längsrichtung der Muskelfaser lagen.

Die am 25. Tag p.i. gefundenen Zysten hatten im Nativpräparat eine Größe von $162 \times 24 \mu\text{m}$, die größte Muskelzyste maß am 140. Tag p.i. dagegen $1225,6 \times 183,7 \mu\text{m}$. In diesen 115 Tagen konnte eine Längenzunahme um das 6,3-fache und eine Breitenzunahme um das 7,6-fache verzeichnet werden. Die Tabelle 1 weist die Größenzunahme vom 25. bis 70. Tag p.i. aus.

Tab. 1 Entwicklung der Zysten von *Sarcocystis singaporensis* in der Muskulatur von experimentell infizierten Ratten. Untersuchung von freipräparierten Zysten in physiologischer Kochsalzlösung.

Charakterisierung einzelner Entwicklungsstufen	Tag p.i.	Zystengröße μm	Fortsätze μm
Zysten (nur mit Metrozyten) ohne Fortsätze	25	162 x 24	-
Zysten mit erkennbaren Fortsätzen	30	258 x 42	3,6 x 1,0
Zysten mit Zystozoiten und erkennbarer Kammerung	40	230 x 60	4,8 x 1,2
Zysten mit maximaler Länge der Fortsätze	70	918 x 78	9,6 x 1,5

Die Form der Zyste war im mikroskopischen Präparat längsoval mit einem spitzeren und einem stumpferen Ende (Abb. 4a). An den beiden Längsseiten waren vom 25. bis 50. Tag p.i. mehrere kleine Einziehungen an der Oberfläche zu beobachten, die bei Zysten ab dem 60. Tag p.i. nicht mehr auftraten.

Am 25. Tag p.i. wirkte die Zystenwand glatt, sie war membranartig dünn und maß ca. 1 μm . Im histologischen Präparat färbte sie sich dunkelblau. Ein optisch leerer Raum umgab die Zyste und trennte sie von den Muskelfibrillen (Abb. 5a). Dieser als parasitophore Vakuole bezeichnete Raum war am 30. Tag p.i. verschwunden (Abb. 5b). Die Zystenwand bestand jetzt aus einer inneren, derben Membran, von der aus sich nach außen Fortsätze gebildet hatten (Abb. 4b). Diese Strukturen stehen senkrecht zur Zystenoberfläche; sie wirken wie ein Borstensaum, der die ganze Zyste bedeckt. Die Dicke des Saumes beträgt an den Längskanten 3,6 μm ,

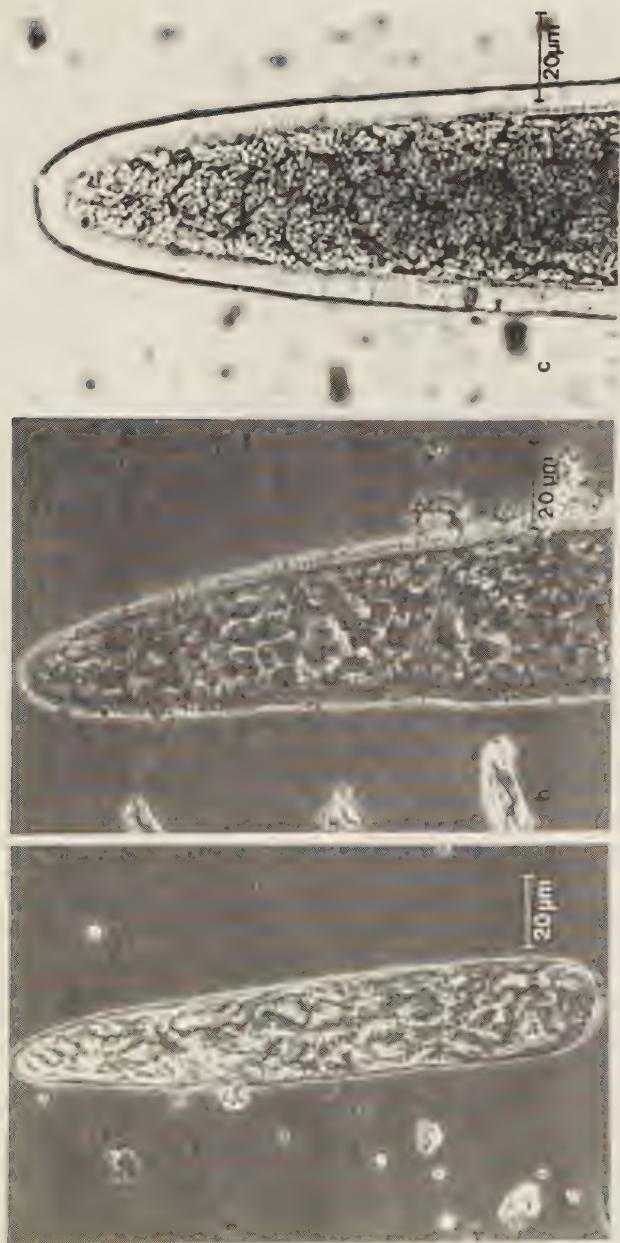


Abb. 4 Zysten von *Sarcocystis singaporensis*

a) Nativpräparat 25. Tag p.i.

b) Nativpräparat 50. Tag p.i.

c) Nativpräparat 70. Tag p.i.

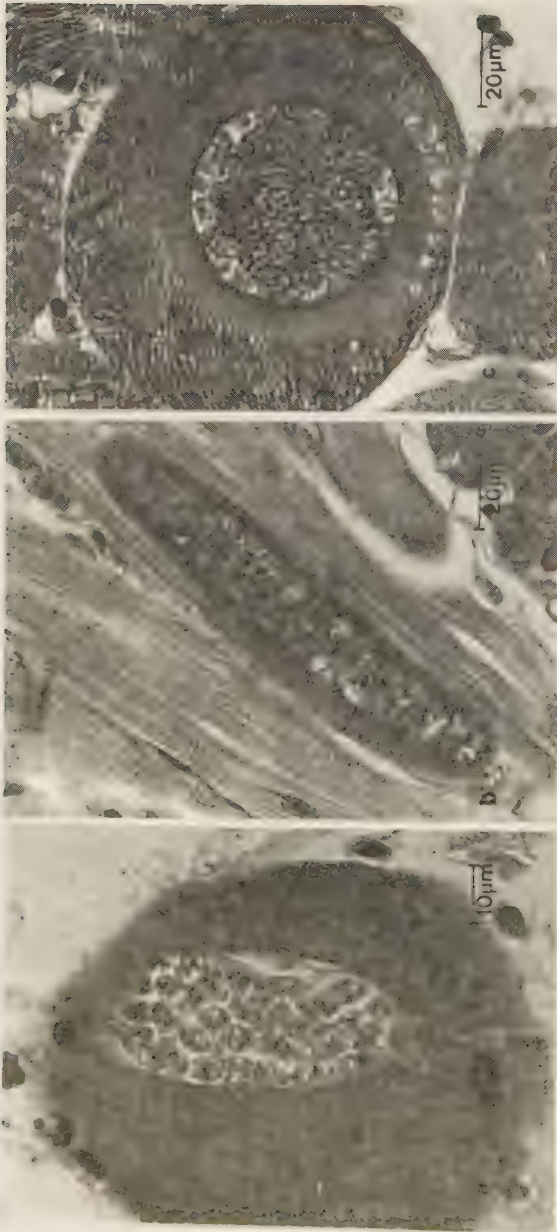


Abb. 5 Zysten von *Sarcocystis singaporensis*

- a) Histologisches Präparat 25. Tag p.i. längs
- b) Histologisches Präparat 30. Tag p.i. längs
- c) Histologisches Präparat 70. Tag p.i. quer

die Breite einer "Borste" ca. 1 μm ; an den beiden Zystenpolen erscheint der Borstensaum schmaler.

Am 40. Tag p.i. war der Saum auf 4,8 μm verdickt. Er bestand aus ca. 1,2 μm dicken Fortsätzen, die trotz Kompression durch das Deckglas bei Scharfeinstellung auf die Zystenoberfläche deutlich als Punkte zu sehen waren. Zwischen den Fortsätzen und der inneren Membran war deutlicher als am 30. Tag p.i. eine zusätzliche, etwa 1,2 μm dicke Schicht zu sehen. Im histologischen Präparat war zu erkennen, daß diese Schicht aus dunkelgefärbten 1,2 x 1,2 μm großen Kästchen bestand, die sich zu einer Kette aneinanderreihen. Daß diese Kästchen durch die Verjüngung der Fortsätze zur Basis hin und die dadurch gebildeten Hohlräume erzeugt waren, konnte man feststellen, wenn man im Nativpräparat von der Scharfeinstellung auf die Zystenoberfläche langsam auf das Zysteninnere fokusierte.

Die gesamte Zystenwand der Zyste vom 70. Tag p.i. einschließlich des Borstensaumes war 9,5 μm dick; die Fortsätze maßen 1,5 μm und die Zwischenräume an ihren Basen waren 1,5 x 1,5 μm groß (Abb. 4c, Abb. 5c).

Besonders fiel auf, daß ab dem 100. Tag p.i. neben Zysten mit langen, stabilen Fortsätzen (Abb. 6a) ein Teil der Zysten einen kürzeren Zystensaum aufwies (Abb. 6b, Abb. 7). Dabei waren an den Längsseiten die Fortsätze kurz und die einzelnen Fortsätze lagen ungeordnet aufeinander; sie maßen 3,6 x 2,0 μm .

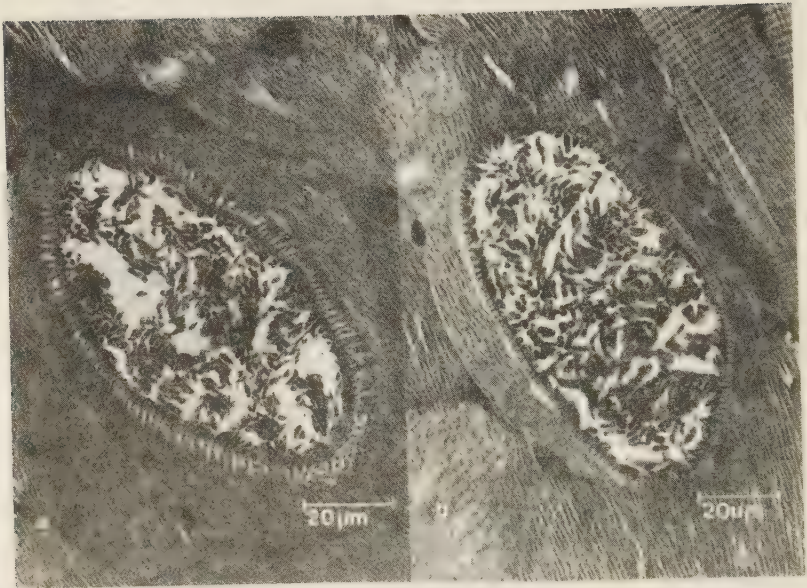


Abb. 6 Zysten von *Sarcocystis singaporensis* aus der Ösophagusmuskulatur der Ratte (histologisches Präparat, 100. Tag p.i.)

- a) Zyste mit langen Fortsätzen
- b) Zyste mit kurzen Fortsätzen

Im histologischen Präparat wirkten die Fortsätze fransig wie ca. 2,0 µm lange Stoppeln. Bei dem so verkürzten Borstensaum war die darunterliegende Schicht nicht mehr genau zu differenzieren, sondern stellte sich gemeinsam mit der Membran nur als dunkelgefärbte, etwas dickere Linie dar (Abb. 6b). Zwischen Zystenwand und Muskelfaser war ähnlich wie am 25. Tag p.i. ein optisch leerer Raum zu beobachten.

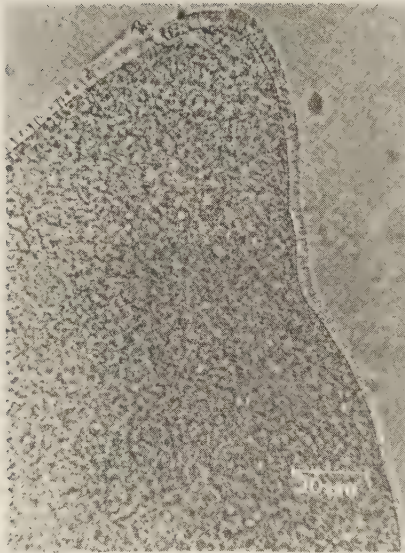


Abb. 7 Zyste von *Sarcocystis singaporensis* mit kurzen Fortsätzen
(Nativpräparat, 140. Tag p.i.)

Am 25. Tag p.i. wurden ausschließlich ovoide Metrozyten in den Zysten gefunden (Abb. 4a, Abb. 5a). Die Größe von 20 gemessenen Metrozyten betrug 4,9 bis 12,0 ($7,7 \pm 2,39$) x 4,9 bis 9,6 ($7,29 \pm 2,04$) μm . Im histologischen Präparat konnten 4 bis 35 Metrozyten pro Zyste gezählt werden. Sie hatten einen deutlichen, dunkelgefärbten Kern und ein rosafarbiges, schaumiges Zytoplasma.

Vom 40. Tag p.i. an sah man im Zysteninneren die ersten Zystozoit, während in der Peripherie noch Metrozyten lagen. Auch war eine deutliche Septenbildung in der Zyste zu erkennen. Ab dem 50. Tag p.i. bildeten die Septen wabenartige Felder von ca. 14 μm Durchmesser, in denen dicht gepackt die Zystozoit lagen.

Nur in der Zystenperipherie waren noch Metrozyten zu finden. Am 60. Tag p.i. waren die Zysten bis zu einer Größe von $750 \times 60 \mu\text{m}$ herangewachsen. Im Inneren lagen dicht bei dicht die Zystozoiten.

Zum Nachweis der Zystenreife wurde zystenhaltiges Rattenfleisch vom 60. Tag p.i. an einen Python reticulatus verfüttert. Die betreffende Schlange schied am 13. Tag p.i. erstmals Sporozysten aus, wodurch die Infektionstüchtigkeit des verfütterten Materials nachgewiesen war.

Die mit Hilfe der Trypsinmethode gewonnenen Zystozoiten (Abb. 8) hatten bananenförmige Gestalt, ihre Größe betrug von 70 gemessenen Zystozoiten $6,86$ bis $9,6$ ($8,27 \pm 1,01$) $\times$ $1,96$ bis $2,94$ ($2,03 \pm 0,21$) μm . Das spitz zulaufende Ende drehte sich in schnellen, schraubenden Bewegungen um den dickeren Zellkörper, in dem Reservestoffe als dunkle Punkte erkennbar waren. Der Kern lag der Mitte genähert.

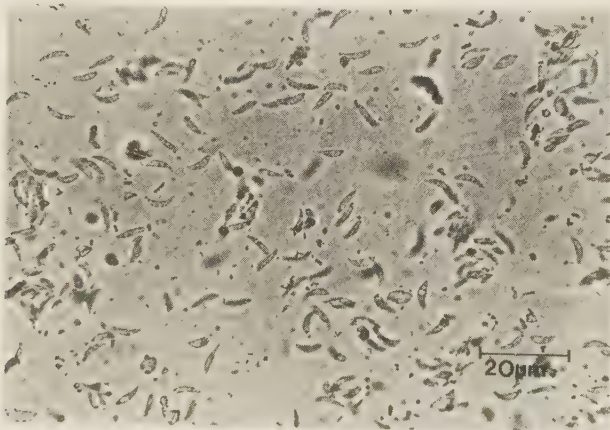


Abb. 8 Zystozoiten von *Sarcocystis singaporensis*
(Nativpräparat)

Im nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparat ließ sich erkennen, daß der ovale, blaugefärbte Kern im hinteren Drittel der Zystozoit lag. Zum stumpfen Pol hin, wie auch am apikalen Pol, befanden sich mehrere dunkelgefärbte Granula.

2. Entwicklung im Endwirt (Python reticulatus)

Zur Untersuchung im Endwirt standen insgesamt fünf Schlangen der Art Python reticulatus zur Verfügung. Das erste Tier war mit einem natürlichen Sarcocystis-Befall zur Sektion gekommen und gleichzeitig der Lieferant des Ausgangsmaterials für die Infizierung des Zwischenwirts (Rattus norvegicus). Anhand der histologisch untersuchten Darmquerschnitte dieses frischimportierten Python reticulatus konnte festgestellt werden, daß die Entwicklung der Sarcocystis-Stadien nur im Duodenum und im vorderen Drittel des Mitteldarmes ablief. Die vier anderen Schlangen wurden experimentell mit zystenhaltiger Rattenmuskulatur infiziert.

a) Gamogonie

Die Beschreibung dieser Vorgänge beruht auf einigen durch Operation entnommenen Proben am 2., 4. und 8. Tag p.i. Trotz dieser Einschränkungen resultiert aus diesen Untersuchungen eine eindeutige Darstellung des gesamten Ablaufes der Gamogonie.

45 Stunden nach der Verabreichung zystenhaltigen Rattenfleisches in einer Maus befanden sich im Darminhalt keine Zystozoit mehr; sie waren bereits in das Darmepithel eingedrungen (Abb. 9a). Die Zoit lagen alle apikal des Wirtszellkernes, einzeln oder zu mehreren in einer parasitophoren Vakuole. Bei einigen war eine beginnende Abrundung zu erkennen. Ihr dunkelblau gefärbter Kern war umgeben von rosafarbenem Zytoplasma, das einzelne Granula enthielt.

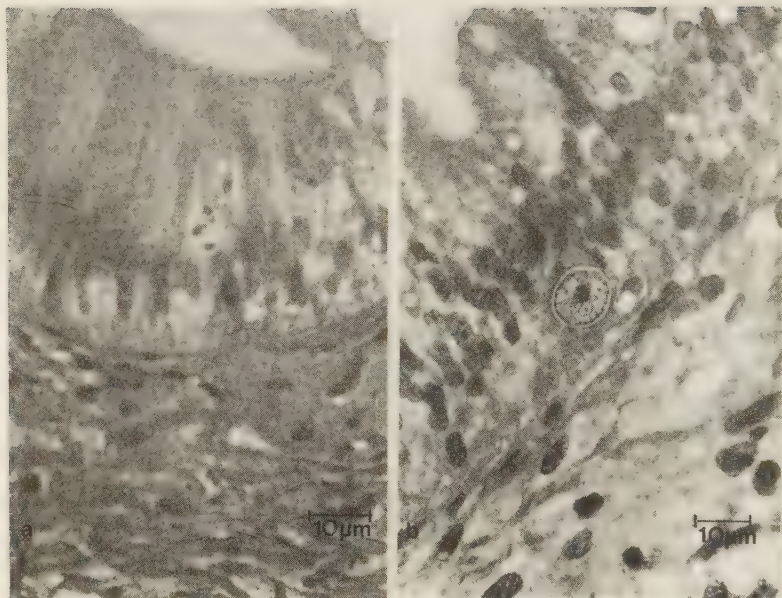


Abb. 9 Entwicklungsstadien von *Sarcocystis singaporensis*
im Dünndarm des Endwirtes *Python reticulatus*

- a) in das Epithel eingedrungene Zystozoiten (histologisches Präparat 45 Stunden p.i.)
- b) unsporulierte Oozyste (histologisches Präparat, 4. Tag p.i.)

Ca. 90 Stunden p.i. war die Gamogonie abgeschlossen. Die jüngsten Oozysten befanden sich jetzt basal der Epithelzellkerne (Abb. 9b). Eine dunkelgefärbte Hülle umgab ihr blasiges, hellrosa Zytoplasma. Der tiefrote, leicht ovoide Kern maß ca. $2,5 \times 2,3 \mu\text{m}$. Die Größe der Oozyste betrug im Durchschnitt $9,1 \times 7,6 \mu\text{m}$.

b) Sporogonie

Basal der Epithelzellkerne, seltener in der Lamina propria der Darmzotten, lagen am 4. Tag p.i. Oozysten von ca. $10,4 \times 8,8 \mu\text{m}$ Größe (Abb 10a). Auffallend an ihnen waren dunkelrote, kappenartige Verdickungen an zwei gegenüberliegenden Polen. Bei einem Teil der Oozysten war bereits eine Teilung des Zytoplasmas zu beobachten.

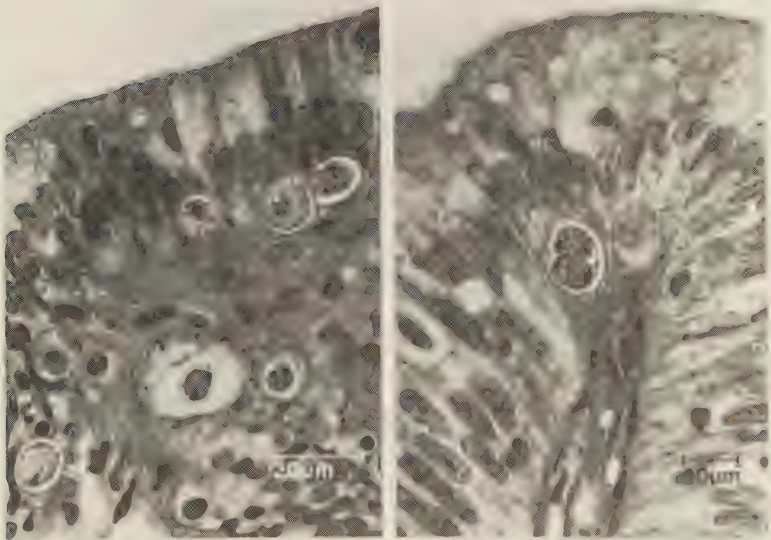


Abb. 10 Entwicklungsstadien von *Sarcocystis singaporensis* im Dünndarm des Endwirtes *Python reticulatus* (histologisches Präparat, 4. Tag p.i.)

- a) unsporulierte Oozysten basal der Epithelzellkerne und in der Lamina propria
- b) Oozyste mit zwei Sporoblasten in der Darmzotte

Gleichzeitig, wenn auch selten, traten Oozysten mit Sporoblastenbildung auf (Abb. 10b). Die inzwischen ca. $11,9 \times 9,5 \mu\text{m}$ große

Oozyste, in einer ca. $14,3 \times 11,4 \mu\text{m}$ großen Vakuole gelegen, fand sich innerhalb von Darmepithelzellen. In der rot gefärbten Oozystenhülle lagen zwei Sporoblasten mit rosafarbigem, schaumigem Zytoplasma. Auch bei ihnen waren kappenartige Verdickungen an zwei gegenüberliegenden Polen zu sehen. Nur bei der Probe vom 8. Tag p.i. konnten sporulierte Oozysten (Abb. 11a) im Darmepithel beobachtet werden. Sie saßen meist apikal des Epithelzellkernes und schoben sich durch die Epithelzellen dem Darmlumen zu.

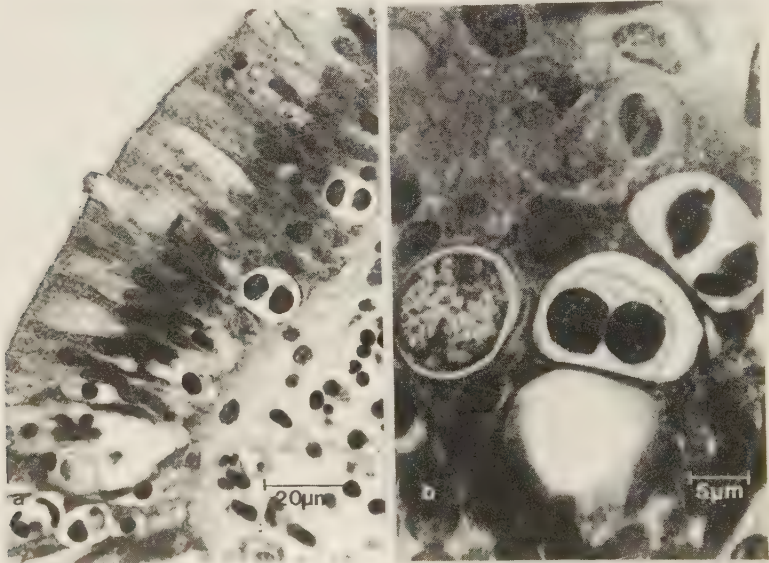


Abb. 11 Entwicklungsstadien von *Sarcocystis singaporensis* im Dünndarm des Endwirtes *Python reticulatus* (histologisches Präparat, 8. Tag p.i.)

- a) Lage der Oozysten und Sporozysten im Darmepithel
- b) unsporulierte Oozyste, Oozyste mit Sporoblasten und Oozyste mit Sporozysten subepithelial

In solchen sporulierten Oozysten ordneten sich die Sporozoiten zu einem Halbmond innerhalb der von einer Oozystenhülle umgebenen Sporozyste an. Neben sporulierten Oozysten kamen am 8. Tag p.i. noch alle ab dem 4. Tag p.i. beobachteten Entwicklungsstadien vor (Abb. 11b).

Der erste nach der Infektion anfallende Kot der Schlangen enthielt in jedem Fall Sarcocystis-Sporozysten. Das war bei zwei Tieren bereits am 8. Tag p.i., bei einem Tier am 13. Tag p.i. und bei einem weiteren erst am 21. Tag p.i. der Fall.

Im Kot am 8. Tag p.i. waren die meisten Sporozysten noch von einer dünnen Oozystenhülle umgeben (Abb. 12a). Vereinzelt kamen auch freie Sporozysten vor (Abb. 12b).

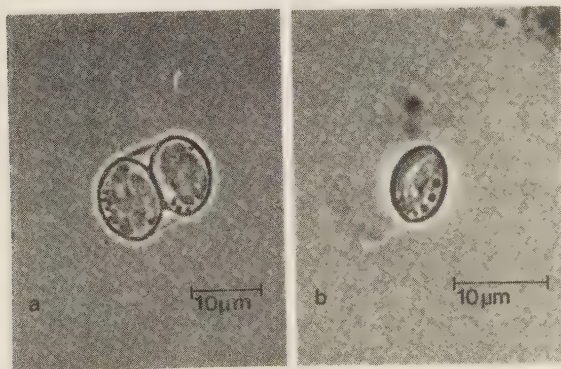


Abb. 12 Oozyste und Sporozysten von *Sarcocystis singaporensis*

- a) Oozyste mit zwei Sporozysten
- b) freie Sporozyste

Im Laufe der Patenz nahm der Anteil der von einer Oozystenhülle umgebenen Sporozysten stetig ab, so daß ab dem 24. Tag p.i. nur noch freie Sporozysten ausgeschieden wurden. Der im Vergleich zu den Säugetieren unterschiedliche Verdauungsablauf bei Schlangen läßt keine verbindliche Aussage über Konzentration der Sporozysten

zysten im ausgeschiedenen Kot sowie deren Zu- bzw. Abnahme im Laufe der Patenz zu. Die Konzentration pro Milliliter Kotsuspension schwankte von 6.500 bis 61.500.

Die Ausscheidungsdauer betrug bei einem der Tiere 73 Tage. 45 ausgezählte Oozysten maßen je nach Lage der Sporozysten zueinander $8,82$ bis $16,8$ ($13,0 \pm 1,91$) $\times$ $6,86$ bis $10,8$ ($8,89 \pm 1,2$) μm . 60 ausgezählte Sporozysten maßen $7,2$ bis $12,0$ ($9,59 \pm 1,04$) $\times$ $6,86$ bis $9,1$ ($7,12 \pm 0,25$) μm .

Jede Sporozyste bestand aus einer relativ dicken, farblosen Hülle, in der sich vier leicht gebogene Sporozoite und ein runder Restkörper von ca. $2,0 \mu\text{m}$ Durchmesser befand. Ein Stiedakörper war nicht erkennbar.

Die von den Versuchsschlangen ausgeschiedenen Sporozysten entsprachen in Morphologie und Größe den Sporozysten, die als Ausgangsmaterial zu diesem Versuch gedient hatten.

IV BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Bei den Sektionen von Schlangen aus Ostasien und Südamerika im Institut für Zoologie (Abteilung Parasitologie) der Universität Hohenheim konnten in den vergangenen Jahren wiederholt Isospora-ähnliche Oozysten bzw. Sporozysten nachgewiesen werden, wie sie für Vertreter der Toxoplasmatidae bzw. Sarcocystidae charakteristisch sind (FRANK und LOOS-FRANK, 1977). Versuche, für die Entwicklung solcher Stadien geeignete Zwischenwirte zu finden, wurden mit Sporozysten (Oozysten) aus *Python reticulatus* an verschiedenen Tierarten (Maus, Meerschweinchen, *Mastomys natalensis*, *Meriones unguiculatus*, Eintagsküken und Ratten) durchgeführt (FRANK, unpubl.).

Ähnliche Versuche hatten RZEPCZYK (1974) sowie ZAMAN und COLLEY (1975) publiziert. Es zeigte sich, daß die von Schlangen ausgeschiedenen Sporozysten bei Ratten eine Muskelentwicklung induzieren. Die Entwicklung im Zwischenwirt zu verfolgen schien deshalb interessant und wurde in der vorliegenden Arbeit dargestellt.

Der zeitliche Ablauf des Zyklus ist mit dem anderer Tiere mit einhöhligen Magen zu vergleichen. Auch HEYDORN (1977) beobach-

tete die erste Schizogonie von *Sarcocystis suihominis* beim Schwein um den 6. Tag p.i., wobei er Schizonten der ersten Generation in der Leber fand. Die zweite Schizogonie von *Sarcocystis suihominis* beobachtete er bis zum 17. Tag p.i. in Gehirn, Niere, Leber, Milz, Lunge und Lymphknoten. Bei der untersuchten Art *Sarcocystis singaporensis* lief sowohl die erste, als auch die zweite Schizogonie in allen untersuchten Organen ab mit dem einen Unterschied, daß erst in der zweiten Vermehrungsphase Schizonten in Gehirn und Körperlymphknoten entdeckt werden konnten. Die Schizonten lagen, wie schon aus Untersuchungen von GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) bei *Sarcocystis fusiformis* und *Sarcocystis tenella* sowie der Untersuchung von HEYDORN und IPCZYNSKI (1978) bei *Sarcocystis suihominis* bekannt war, in den Endothelzellen der Blutgefäße.

Die mit der Schizogonie verbundenen Temperaturanstiege beobachteten GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) bei Kälbern, die mit *Sarcocystis fusiformis* (Endwirt Hund) infiziert waren, um den 16. bis 20. Tag p.i. und ab dem 26. bis 27. Tag p.i., sowie HEYDORN (1978) bei mit *Sarcocystis suihominis* infizierten Schweinen zwischen dem 7. bis 10. Tag p.i. und 12. bis 22. Tag p.i. Bei den hier infizierten 20 Ratten konnten deutliche Temperaturerhöhungen um den 6. und 16. Tag p.i. beobachtet werden, bei 12 von 20 ein zusätzlicher Temperaturanstieg um den 24. Tag p.i. Dieser letzte Anstieg kann - da bereits am 25. Tag p.i. Muskelysten nachzuweisen waren - kaum mehr mit der Schizogonie in Verbindung gebracht werden; er wäre möglicherweise als durch die Zystenentwicklung bedingtes "rheumatisches Muskelfieber" zu deuten.

Die Pathogenität bestimmter *Sarcocystis*-Arten für den Zwischenwirt ist für Haussäugetiere seit einiger Zeit bekannt. Besonders diejenigen des Hundes sind sowohl für Rinder (*S. bovicanis*) hochpathogen, wie FAYER und JOHNSON (1973) und GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) berichteten, als auch für Schafe (*S. ovis*) wie GESTRICH, SCHMITT und HEYDORN (1974) sowie MUNDAY (1975) aufzeigten.

Auch die *Sarcocystis*-Arten aus Schlangen sind hochpathogen für den Zwischenwirt Ratte. Bei RZEPCZYK (1974) starben alle drei

infizierten Ratten und ZAMAN (1976) berichtet, daß bereits 1.000 Sporozysten aus einem *Python reticulatus* absolut tödlich für 25 Ratten waren. Auch die in unseren Versuchen hochinfizierten Tiere starben an den Folgen der Schizogonie. Die Befunde bei den Sektionen gleichen sich: diffuse, petechiale Blutungen, Schwellungen des lymphatischen Apparates und teilweise auch Veränderungen der großen Parenchyme.

Die weitere Entwicklung der Parasitenstadien von *Sarcocystis singaporensis* konnte anhand der mit 150 Sporozysten infizierten Ratten verfolgt werden, denn bei dieser Dosierung waren außer den beschriebenen Temperaturerhöhungen keine weiteren Krankheitssymptome zu erkennen.

Schon am 25. Tag p.i. wurden Muskelzysten gefunden. RUIZ und FRENKEL (1976) sahen die ersten Zysten von *Sarcocystis muris* in der Maus erst am 28. Tag p.i. Zeitlich noch vergleichbar fanden BOCH, MANNEWITZ und ERBER (1978) bei einem mit *Sarcocystis suis* infizierten Schwein Zysten am 26. Tag p.i.

Die Entwicklung von *Sarcocystis singaporensis* läuft dagegen schneller ab, da die Muskelzysten des Schweines von *Sarcocystis suicanis* und *S. suis* am 30. Tag p.i., wie ERBER (1977) fand, noch keine spezifischen Wandstrukturen erkennen ließen, während die hier beschriebene Art bereits deutliche Fortsätze besaß. Bestätigt wird diese schnelle Entwicklung auch durch die Rückverfütterung an Schlangen. Bereits Muskelzysten vom 60. Tag p.i. induzierten eine Sporozystenausscheidung. RUIZ und FRENKEL (1976) gelang dagegen bei Katzen erst eine Sporozystenausscheidung (*S. muris*), nachdem die Muskelzysten in den Mäusen bis zum 76. Tag herangereift waren.

Der Zystenrand der reifen Zyste mit seinen 9,6 µm langen, stabilen Fortsätzen ist vergleichbar mit der von RZEPczyk und SCHOLTYSECK (1976) beschriebenen mit 8,5 bis 11 µm dickwandigen Zyste bei der australischen Ratte, *Rattus fuscipes*. Auch ZAMAN und COLLEY (1975) fanden zwei Monate p.i. in der Ratte Muskelzysten mit einem 4,5 µm langen, gestreiften Rand, während ASHFORD (1978) bei Ratten (*S. cymruensis*), die mit Sporozysten der Katze gefüttert worden waren, dünnwandige Zysten beobachtete.

Die ab dem 100. Tag p.i. festgestellten Veränderungen an der Zystenwand, die sich in einer Verkürzung der Fortsätze bemerkbar machten, können nicht auf Abwehrreaktionen des Wirtes zurückgeführt werden, da keine zelluläre Infiltration um die befallenen Muskelzellen zu bemerken war. Vielmehr liegt die Vermutung nahe, daß die Veränderungen aufgrund der erreichten Zystengröße und dadurch bedingte Ernährungsstörungen bewirkt wurden oder durch den von der Muskelzelle ausgeübten Druck. Für diese Annahme spricht, daß die Verkürzung an den Längsseiten der Zysten entlang den Muskelfasern weiter fortgeschritten war als an den Zystenpolen.

Die Innenstruktur der Muskelzysten von *Sarcocystis singaporensis* entsprach dem bekannten Grundbauplan der bisher beschriebenen *Sarcocystis*-arten der Haussäugetiere. So zeigten sie auch eine besonders gut im Nativpräparat sichtbare Kammerung, die ZAMAN und COLLEY (1975) bei ihren Untersuchungen nicht registrierten.

Die in den jungen Zysten vom 25. und 30. Tag p.i. ausschließlich vorkommenden ovoiden Metrozyten lagen im weiteren Ablauf der Endodyogenie nur noch in der Peripherie der Zyste. Im Zysteninneren machten sich die bananenförmigen Zystozoiten breit. Sie lagen mit ihrer Größe von durchschnittlich $8,2 \times 2,0 \mu\text{m}$ unter der bei Haussäugetieren vorkommenden Arten. MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1973) gaben die Größe der Zystozoiten von *Sarcocystis tenella* mit 12 bis 15 $\times$ 3 bis 4 μm und MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975 b) die Länge derjenigen von *Sarcocystis ovis* mit 14 bis 17 μm an.

In den Zystozoiten von *Sarcocystis singaporensis* fielen kleine Granula sowohl am kernnahen wie auch am spitzen, kernfernen Pol auf. Die gleichen Beobachtungen berichteten RZEPczyk und SCHOLTYSECK (1976) von Zystozoiten der dickwandigen Zyste der australischen Ratte, *Rattus fuscipes*. MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1974 a) wiesen an den gleichen Stellen im elektronenmikroskopischen Präparat mit Hilfe der Silber-Proteinat-Kontrastierung nach THIERY Polysaccharid-Grana bei Zystozoiten von *Sarcocystis tenella* nach.

ZAMAN und COLLEY (1975) hatten die Untersuchung von Sarcocystis singaporensis im Endwirt an neun natürlich infizierten Schlangen der Art *Python reticulatus* vorgenommen. In der vorliegenden Arbeit wurden vier Schlangen experimentell infiziert und die exakten zeitlichen Abläufe in der Entwicklung der Sarkosporidien erstmals festgestellt.

RUIZ und FRENKEL (1976), die den Darm von mit *Sarcocystis muris* infizierten Katzen in Drei-Stunden-Intervallen untersuchten, fanden 3 bis 6 Stunden p.i. in das Darmepithel eingedrungene Zystozoiten, wie auch schon HEYDORN und ROMMEL (1972) 8 Stunden p.i. bei Katzen, denen *Sarcocystis fusiformis*-haltige Rinderschlünde verabreicht worden waren. Dieses Stadium wurde bei der *Python reticulatus* 45 Stunden p.i. festgestellt. Die verzögerte Einwanderung der Zystozoiten in das Darmepithel ist wohl auf die anders geartete Verdauung der Schlange zurückzuführen. Die Schlange kaut ihre Nahrung (ganze Tiere) von außen an; damit vergeht längere Zeit, bis das Muskelfleisch und somit die Zysten in den Verdauungsprozeß einbezogen werden.

Die weitere Entwicklung in Duodenum und Mitteldarm lief basal der Epithelzellkerne ab, wie auch HEYDORN und ROMMEL (1972 a) bei mit *S. fusiformis* infizierten Katzen fanden. MEHLHORN, BECKER und HEYDORN (1978) zeigten anhand von Untersuchungen an Zellkulturen, daß die Gamogonie von Sarkosporidien innerhalb 18 bis 21 Stunden abläuft. Auch in der Schlange konnten deshalb am 4. Tag p.i. bereits unsporulierte Oozysten angetroffen werden. Die Sporulation begann am 4. Tag p.i., während sie RUIZ und FRENKEL (1976) bei *S. muris* schon am 3. Tag p.i. im Katzendarm beobachten konnten.

Die während der Sporulation angetroffenen dunkelgefärbten Granula an zwei gegenüberliegenden Polen der Sporozysten werden auch von MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1974) in mit *Sarcocystis tenella* infizierten Katzen erwähnt. Sie beschrieben sie in ihren elektronenmikroskopischen Untersuchungen als Kern von U-förmiger Gestalt.

Die Präpatenz bei drei Schlangen betrug 8 bis 13 Tage und entsprach den Zeiten, die für Haussäugetiere und den Menschen bekannt sind: z.B. gaben HEYDORN und ROMMEL (1972) für *Sarcocystis*

bovicanis 9 bis 10 Tage, MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1974) für *Sarcocystis tenella* 11 bis 12 Tage, MUNDAY (1974) für *Sarcocystis ovicanis* 13 bis 15 Tage und HEYDORN (1977) für *Sarcocystis suihominis* 9 Tage an. Bei der vierten Schlange, die erst am 21. Tag p.i. Sporozysten ausschied, war wahrscheinlich die Darmpassage des Nahrungsbreies durch den operativen Eingriff der Darmresektion am 4. Tag p.i. verzögert. Es könnte auch damit zusammenhängen, daß dieses Tier während der ersten Wochen post operationem keine Nahrung erhielt.

Die Sporozysten waren mit durchschnittlich $9,6 \times 7,1 \mu\text{m}$ kleiner als die von den Haussäugetieren bekannten Arten, entsprachen aber in der Größe den von ZAMAN und COLLEY (1975) angegebenen $9,1 \times 7,7 \mu\text{m}$ sowie den Messungen, die von FRANK (unpubl.) bei der Sektion mehrerer Schlangen der Art *Python reticulatus* vorgenommen wurden.

V ZUSAMMENFASSUNG

Sporulierte Oozysten bzw. Sporozysten ($9,3 \times 7,3 \mu\text{m}$) von *Sarcocystis singaporensis* aus frisch importierten *Python reticulatus* wurden an 82 männliche Wistar-Ratten oral verabreicht. Die vertragliche Dosis betrug 150 Sporozysten pro Tier.

Mit Hilfe von Fiebermessungen, von nach Giemsa gefärbten Tupfpräparaten und an histologischen Präparaten innerer Organe konnte die erste Schizogonie um den 6. Tag p.i., die zweite um den 16. Tag p.i. festgestellt werden. Die Schizonten lagen in den Endothelzellen der Blutgefäße von Leber, Lunge, Milz, Niere, Darm, Darmlymphknoten, Körperlymphknoten, Zwerchfell und Gehirn. In der Muskulatur wurden anfänglich Metrozyten, ab dem 40. Tag p.i. Zystozoiten gefunden. Die Muskelzysten waren bis $1125 \times 183,7 \mu\text{m}$ groß und gekammert und hatten einen ca. $9,6 \mu\text{m}$ breiten Borstensaum, der aus senkrecht zur Oberfläche stehenden stäbchenartigen Fortsätzen bestand. Ab dem 100. Tag p.i. wurden Zysten mit kürzeren Fortsätzen beobachtet.

Die Verfütterung von zystenhaltiger Rattenmuskulatur an vier Schlangen der Art *Python reticulatus* führte am 8. bzw. 13. Tag p.i. zur Sporozystenausscheidung, die mindestens 73 Tage anhielt. Histologische Untersuchungen von Darmquerschnitten ergaben, daß die Gamogonie und Sporogonie subepithelial in Duodenum und im vorderen Drittel des Mitteldarmes ablaufen. Oozysten mit Sporozystenbildung waren erstmals am 4. Tag p.i. nachzuweisen.

SUMMARY

Studies on development of *Sarcocystis singaporensis* ZAMAN and COLLEY, 1976 in the rat (*Rattus norvegicus* BERKENHOUT, 1769) and the reticulated python (*Python reticulatus* SCHNEIDER, 1801).

Sporulated oocysts respectively sporocysts ($9,3 \times 7,3 \mu\text{m}$) of *Sarcocystis singaporensis* from a newly imported reticulated python were given to 82 Wistar-rats per os. A sociable dosis came to 150 sporocysts per animal.

By controls of fever, Giemsa-stained smeares and histological sections of the inner organs the first schizogony could be detected at the time of the 6th day p.i., the second schizogony at the 16th day p.i. The schizonts lay in the endothelial cells of the blood-vessels of liver, lungs, spleen, kidney, intestine, lymphatic node of intestine and the body, diaphragm and the brain. In the muscle first metrocytes, up from the 40th day p.i. cystozoites were found. The cysts measured up to $1125 \times 183,7 \mu\text{m}$, the cystwall averaged about $9,6 \mu\text{m}$ in the width and consists of protrusions perpendicular to the surface. At the 100th day p.i. cysts with smaller protrusions were observed.

Sarcocysts infected muscle from the rats was fed to 4 snakes *Python reticulatus*, which shed sporocysts beginning at the 8th and 13th day p.i., for a time of minimum 73 days. Histological investigation of the intestine shows the gamogony and sporogony subepithelial in duodenum and the first third of the middle-intestine. Oocysts with sporoblasts were seen first at the 4th day p.i.

VI LITERATURVERZEICHNIS

1. ASHFORD, R. (1978): *Sarcocystis cymruensis* n. sp., a parasite of rats *Rattus norvegicus* and cats *Felis catus*.
Ann. Trop. Med. Parasitol. 72, 137-143
2. BABUDIERI, B. (1932): I Sarcosporidi e le Sarcosporidiosi.
Arch. Protistenk. 76, 421-580
3. BERTRAM, A. (1892): Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien.
Sarcocystis platydactyli nov. spec.
Zool. Jahrb. Anat. und Ontog. 5, 581-604
4. BOCH, J., U. MANNEWITZ und M. ERBER (1978): Sarkosporidien bei Schlachtschweinen in Süddeutschland.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 106-111
5. CHATTON, E. et M. AVEL (1923): Sur la Sarcosporidie du Gecko et son Cytophanères.
C.R.Soc. Biol. 89, 181-185
6. ERBER, M. (1977): Möglichkeiten des Nachweises und der Differenzierung von zwei *Sarcocystis*-Arten des Schweines.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 480-482
7. FAYER, R. and A.J. JOHNSON (1973): Development of *Sarcocystis fusiformis* in calves infected with Sporocysts from dogs.
J. Parasitol. 59, 1135-1137
8. FRANK, W. (1966): Eine *Sarcocystis*-Infektion mit pathologischen Veränderungen bei *Chamaeleo fischeri* durch *Sarcocystis chamaeleonis* n. spec. (Protozoa, Sporozoa).
Z. Parasitenk. 27, 317-335

9. FRANK, W. und B. LOOS-FRANK (1977): Interessante Krankheitsbilder bei Amphibien und Reptilien, die durch Bakterien, Pilze und Parasiten bedingt sind - eine Übersicht nach 15-jähriger Erfahrung. Verhandlungsbericht des XIX. Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere, Poznań.
10. FRENKEL, J.K. (1977): *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia.
J. Parasitol. 63(4), 611-628
11. GESTRICH, R., M. SCHMITT und A.O. HEYDORN (1974): Pathogenität von *Sarcocystis tenella*-Sporozysten aus den Fäzes von Hunden für Lämmer.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 362-363
12. GESTRICH, R., A.O. HEYDORN und N. BAYSU (1975): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VI. Untersuchungen zur Artendifferenzierung bei *Sarcocystis fusiformis* und *Sarcocystis tenella*.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 191-197 und 201-204
13. GESTRICH, R., H. MEHLHORN und A.O. HEYDORN (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten der großen Form von *Isospora bigemina* der Katze.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 233, 261-276
14. HEYDORN, A.O. und M. ROMMEL (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. II. Hund und Katze als Überträger der Sarkosporidien des Rindes.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 121-123

15. HEYDORN, A.O. und M. ROMMEL (1972 a): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. IV. Entwicklungsstadien von *Sarcocystis fusiformis* in der Dünndarmschleimhaut der Katze.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 333-336
16. HEYDORN, A.O., V. IPCZYNSKI, E.O. MUHS und R. GESTRICH (1974): Zystenstadien aus der Muskulatur von *Isospora hominis* infizierten Kälbern.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87, 278
17. HEYDORN, A.O., H. MEHLHORN und R. GESTRICH (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten der großen Form von *Isospora bigemina* des Hundes. 2. Die Feinstruktur der Zystenstadien.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 233, 123-137
18. HEYDORN, A.O. und R. GESTRICH (1976): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VII. Entwicklungsstadien von *Sarcocystis ovis* im Schaf.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 89, 1-5
19. HEYDORN, A.O. (1977): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. IX. Entwicklungszyklus von *Sarcocystis suihominis* n. spec.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 218-224
20. HEYDORN, A.O. und V. IPCZYNSKI (1978): Zur Schizogonie von *Sarcocystis suihominis* im Schwein.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 154-155
21. JUNGSMANN, R., V. BERGMANN, Th. HIEPE und T. NEDJARI (1977): Untersuchungen zur septikämisch verlaufenden experimentellen *Sarcocystis-ovis*-Infektion.
Mh. Vet.-Med. (Jena) 32, (23) 885-889

22. LAINSON, R. and J.J. SHAW (1971): *Sarcocystis gracilis* n. sp.
from the Brazilian Tortoise *Kinosternon scorpioides*.
J. Protozool. 18, (3) 365-372
23. LAINSON, R. and J.J. SHAW (1972): *Sarcocystis* in tortoise:
A replacement name *S. kinosterni* for the homonym
S. gracilis Lainson und Shaw 1971.
J. Protozool. 19, 212
24. LEVINE, N.D. (1977): Nomenclature of *Sarcocystis* in the ox
and sheep and of fecal *Coccidia* of the dog and cat.
J. Parasitol. 63, 36-51
25. MACHULSKII, S.T. und N.D. MISKARYAN (1958): Tr. Buyrat-Mong.
zoovet. inst. vyp. 13, 297-299
zit. nach: KALYAKIN V.N. und D.N. ZASUKHIN (1975):
Distribution of *Sarcocystis* (Protozoa: Sporozoa)
in vertebrates Folia. parasitol. 22, 289-307
26. MEHLHORN, H. und E. SCHOLTYSECK (1973): Elektronenmikroskopische
Untersuchungen an Cystenstadien von *Sarcocystis tenella* aus der Oesophagus-Muskulatur des
Schafes.
Z. Parasitenk. 41, 291-310
27. MEHLHORN, H. und E. SCHOLTYSECK (1974): Licht- und elektronen-
mikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von *Sarcocystis tenella* aus der Darmwand der
Katze.
Z. Parasitenk. 43, 251-270
28. MEHLHORN, H. und E. SCHOLTYSECK (1974 a): Die Parasit-Wirts-
beziehung bei verschiedenen Gattungen der Sporozoen
(*Eimeria*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Frenkelia*
Hepatozoon, *Plasmodium* und *Babesia*) unter Anwen-
dung spezieller Verfahren.
Microsc. acta 75, (5) 429-451

29. MEHLHORN, H., A.O. HEYDORN und R. GESTRICH (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten von *Isospora hominis* Railliet et Lucet, 1891.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 231, 301-322
30. MEHLHORN, H., A.O. HEYDORN und R. GESTRICH (1975 a): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten der großen Form von *Isospora bigemina* des Hundes.
1. Zur Entstehung der Cyste und der "Cystenwand".
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 232, 392-409
31. MEHLHORN, H., A.O. HEYDORN und R. GESTRICH (1975 b): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis ovis* Heydorn et al. (1975) in der Muskulatur von Schafen.
Z. Parasitenk. 48, 83-93
32. MEHLHORN, H., B. BECKER und A.O. HEYDORN (1978): Light and electron microscopical studies on experiments producing Gamogony of 5 *Sarcocystis* species in vivo and in tissue cultures.
Abstracts of the 2nd German Japanese Cooperative Symposium on Protozoan Diseases Bonn, 1978
33. MUNDAY, B.L., I.K. BARKER and M.D. RICKARD (1975): The developmental cycle of a species of *Sarcocystis* occurring in dogs and sheep, with observations on pathogenicity in the intermediate host.
Z. Parasitenk. 46, 111-123

34. v. RATZ, St. (1909): Az izmokban élősködő véglények és a magyar faunában előforduló fajaik (Die Sarkosporidien und ihre in Ungarn vorkommenden Arten) Allattain közlanények 8, 1-37
35. ROMEIS, B. (1968): Mikroskopische Technik. R. Oldenbourg Verlag, München-Wien, 16. Auflage
36. ROMMEL, M., A.O. HEYDORN und F. GRUBER (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporozyste von *S. tenella* in den Fäzes der Katze. Berl. Münch. Tierärztl. WSchr. 85, 101-105
37. RUIZ, A. and J.K. FRENKEL (1976): Recognition of cyclic transmission of *Sarcocystis muris* by cats. J. Infect. Dis. 133, 409-418
38. RZEPCZYK, Chr. (1974): Evidences of a rat-snake cycle for *Sarcocystis*. Int. J. Parasitol. 4, 447-449
39. RZEPCZYK, C. and E. SCHOLTYSECK (1976): Light and electron microscope studies on the *Sarcocystis* of *Rattus* Z. Parasitenk. 50, 137-150
40. SENAUD, J. et P. de PUYTORAC (1965): Observation de la *Sarcosporidie* du Léopard (*Lacerta muralis*). Arch. Zool. Exp. Gén. 104, 182-186
41. TADROS, W. und J.J. LAARMAN (1976): *Sarcocystis* and related coccidian parasites: a brief general review, together with a discussion on some biological aspects of their life cycles and a new Proposal for their classification. Acta Leidens Med. Inst. Trop. Geneesk 44, 1-137

42. TIEGS, O.W. (1931): Note on the occurrence of *Sarcocystis* in muscle of Python.
Parasitol. 23, 412-414
43. TRINCI, G. (1911): Note sopra una *Sarcocystis* parassita di *Gongylus ocellatus* Wagl., con considerazioni critiche sulla morfologia e sulla biologia dei Sarcosporidi.
Monit. zool. ital. 22, 309-326
44. ZAMAN, V. and F.C. COLLEY (1975): Light and electron microscope observations of the life cycle of *Sarcocystis orientalis* sp. n. in the rat (*Rattus norvegicus*) and the Malaysian reticulated python (*Python reticulatus*).
Z. Parasitenk. 47, 169-185
45. ZAMAN, V. (1975): Revision of *S. orientalis* Zaman and Colley 1975.
S. East Asian J. Trop. med. pub. hlth. 6, 603
46. ZAMAN, V. (1976): Host range of *Sarcocystis orientalis*.
S. East Asian J. Trop. med. pub. hlth. 7, 112
47. ZAMAN, V. and F.C. COLLEY (1976): Replacement of *Sarcocystis orientalis* Zaman and Colley, 1975 by *Sarcocystis singaporensis* n. sp.
Z. Parasitenk. 51, 137

LEBENS LAUF

Name: Helga Maria Brehm geb. Rück

geboren am: 24.1.1951

in: Erlangen

Familienstand: verheiratet
mit Hans-Georg Brehm

Eltern: Heinrich Rück
Maria Rück geb. Müller

Schulbildung: 1957 - 1961 Pestalozzischule Fürth/Bay.
1961 - 1971 Maria Ward-Schule der
Englischen Fräulein, Nürnberg
1971 Abitur

Berufsausbildung: 1971 - 1976 Studium der Tiermedizin an der
Universität München
1974 erster,
1975 zweiter,
1976 dritter Abschnitt der tierärztlichen
Prüfung
1977 Approbation als Tierarzt
1977 - 1978 Anfertigung der Inaugural-
Dissertation zur Erlangung der tiermedizi-
nischen Doktorwürde im Institut für Zoologie,
Abteilung Parasitologie, der Universität
Hohenheim; Leiter: Prof. Dr. W. Frank

Für Überlassung des Themas und eines Arbeitsplatzes
sowie für die wohlwollende Unterstützung bin ich
Herrn Prof. Dr. W. Frank zu Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch und Herrn Dr. M. Erber
danke ich herzlich für die gewährte Hilfe bei der Anfer-
tigung der Arbeit.

Druck: Reprografik E. Müllerbader
Forststraße 18
7024 Filderstadt 4 (Plattenhardt)
Telefon: (0711) 77 15 67